

ARTICLE PRINCIPAL

Recouvrant en partie

LA THESE DE DOCTORAT ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES

de PARIS

par

Monsieur Jean PELLETIER

pour obtenir

le grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la Thèse : Influence du photopériodisme et des androgènes sur
la synthèse et la libération de LH chez le bélier

Soutenue le : 19 Mai 1971
—

devant la Commission d'Examen
MM JOST, Président
THIBAUT, Examineurs
ORTAVANT

COLLOQUES NATIONAUX
DU
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

N° 927

NEUROENDOCRINOLOGIE

PARIS
24-26 septembre 1969

Publié sous la direction de

Jacques BENOIT

Professeur honoraire
au Collège de France

Claude KORDON

Chargé de Recherche
au C.N.R.S.

EXTRAIT

ÉDITIONS DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

15, quai Anatole-France - PARIS VII^e

1970

COLLOQUES NATIONAUX
DU
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

N° 937

NEUROENDOCRINOLOGIE

PARIS
24-26 septembre 1969



Publié sous la direction de

CLAUDE KORDON
Laboratoire de Neurobiologie
et d'Endocrinologie

JACQUES HENNOT
Laboratoire de Neurobiologie
et d'Endocrinologie

EXTRAIT

ÉDITIONS DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
15, rue de la Harpe - PARIS VII

970

INFLUENCE DE LA TESTOSTÉRONE SUR LA SÉCRÉTION ET LA LIBÉRATION DE L'HORMONE LUTEINISANTE (LH) CHEZ LE MALE

J. PELLETIER

I.N.R.A. - Laboratoire de Physiologie de la Reproduction

37 - Nouzilly, France

Résumé. — L'effet de la testostérone sur la sécrétion et la décharge de LH est étudiée chez le mâle. Des injections chroniques de propionate de testostérone conduisent toujours à une diminution de la LH hypophysaire et de la LH plasmatique interprétée comme une inhibition de la synthèse et de l'excrétion de l'hormone. Un traitement androgénique court provoque une augmentation de la LH hypophysaire et une diminution de la LH plasmatique, révélant une action différente sur la sécrétion et l'excrétion hormonales. La décharge de LH a fait l'objet d'une étude particulière chez le bélier comprenant notamment l'influence de la castration, de la dose d'androgène injectée et de l'intervalle castration-traitement stéroïdien sur le taux de LH plasmatique. Finalement il a pu être montré que l'inhibition de la décharge de LH par la testostérone était due au blocage de la synthèse du LRF. L'action de la testostérone sur la sécrétion de LH est discutée en conclusion.

Summary. — The action of testosterone on LH secretion and release has been studied in the ram. Chronic injections of testosterone propionate intra-muscularly (100 mg each other day during 4 weeks) to intact and castrated rams, induce in both groups a significant decrease of hypophyseal and plasma LH (Table I). This result is interpreted as an inhibition of LH synthesis and release by testosterone.

A particular study on the LH release in the blood has been conducted in the castrated ram :

A) The castration is followed by an increase of the concentration of LH in plasma from 2 ng/ml to 10-15 ng/ml a week after the orchidectomy. One year after the castration, the LH level is included between 15-30 ng/ml according to individuals.

B) One injection of 100, 200 or 400 mg of testosterone propionate induces a more and more important decrease of plasma LH level (Fig. 1 and 2).

C) The influence of postcastration time interval on plasma LH level variation following an injection of 400 mg of testosterone propionate is shown in figure 3 : 24 hours after the injection the LH levels respectively decrease of 90 % and 20 % in rams castrated 1 week or 7 months previously.

The mode of action of testosterone propionate has been studied in measuring hypophyseal and plasma LH and the LRF activity in the hypothalamus of castrated rams, slaughtered without treatment or 2 days, 7 days or 9 days after an injection of 400 mg of testosterone propionate. 2 days after the injection the results are especially clear : there is a highly significant decrease ($P < 0.01$) of plasma LH and LRF activity but an increase in hypophyseal level. These results indicate, in these conditions, that testosterone does not inhibit the LH secretion but the LH release. The decrease of LRF in hypothalamus suggests an action of testosterone on LRF synthesis.

Les relations entre les gonadotropines et les stéroïdes ont été détectées peu après la mise en évidence des hormones gonadotropes. Dès 1929, Evans et Simpson d'une part, et Engle d'autre part, montraient une augmentation de la teneur hypophysaire en gonadotropines chez le rat après

castration. Cependant, 20 ans plus tard, Greep et Jones (1950) constataient qu'il n'était toujours pas possible de définir clairement l'influence des stéroïdes sur le fonctionnement de l'hypophyse ; selon ces auteurs, la difficulté d'une vue cohérente en ce domaine provenait en particulier

de la diversité des souches de rat utilisées dans l'expérimentation et de celle des traitements stéroïdiens, en durée et en dose. Bien que la remarque de Greep et Jones soit encore valable aujourd'hui, la confusion essentielle venait en réalité de ce que les techniques utilisées ne permettaient pas de séparer deux phénomènes distincts : la sécrétion et l'excrétion hormonales. Le dosage quantitatif et spécifique de la LH hypophysaire (Greep *et al.*, 1941; Parlow, 1958) ne fournit en effet qu'un aspect statique d'un équilibre entre la synthèse et la décharge. Celle-ci ne peut être étudiée qu'à l'aide des dosages de LH dans le sang, pour lesquels les méthodes ont longtemps fait défaut. Mise au point pour l'insuline par Berson et Yalow (1956), la technique de dosage radioimmunologique a pu être récemment appliquée à la LH plasmatique chez l'homme (Midgey, 1966; Franchimont, 1966) chez le rat (Monroe *et al.*, 1968) et chez les animaux domestiques, ovins et bovins (Pelletier *et al.*, 1968; Niswender *et al.*, 1969). Cette méthodologie ouvre des perspectives nouvelles aux études des relations entre les stéroïdes et l'activité de l'hypophyse puisqu'il est désormais possible de suivre chez un même sujet la cinétique de la LH dans le sang après un traitement androgénique.

Nous prendrons en considération essentiellement la testotérone qui est le principal stéroïde testiculaire actif dans le sang périphérique de nombreuses espèces. Ainsi chez le bélier où nous avons effectué l'ensemble de nos recherches, il a pu être montré que la somme de l'épitéstostérone et de la $\Delta 4$ -androsténone ne représentait que 10 % environ de la quantité de testostérone circulante (ATTAL, 1969 et communication personnelle).

Enfin sans mésestimer l'influence des facteurs autres que les androgènes (photopériodisme, glande pinéale, etc...) nous n'envisagerons que l'action de ces derniers sur la régulation de la sécrétion et de la décharge de LH, cette action nous paraissant en effet primordiale.

Si l'on considère les travaux étudiant l'influence des stéroïdes sur les gonadotropines, il semble qu'on puisse les diviser en deux groupes suivant que le traitement androgénique considéré était chronique ou aigu; en effet les résultats auxquels on aboutit dans ces deux cas diffèrent notablement.

I. — Effet du traitement chronique par les androgènes sur la sécrétion et la décharge de LH

De nombreux travaux ont été réalisés chez des animaux castrés où il était plus aisé de montrer un effet inhibiteur sur un système hypothalamo-hypophysaire en état d'hyperfonctionnement. De fait, chez le rat mâle, il a été montré une augmentation nette du taux de LH dans l'hypophyse (Hellbaum et Greep 1943; Greep et Jones, 1950; Purves et Griesbach, 1955; Paesi et de Jough, 1958) et dans le sang (Gans, 1959; Ramirez et McCann, 1963), bien que dans ce dernier cas les méthodes de dosages impliquées ne soient que semi-quantitatives. De même il a été trouvé une augmentation de la LH hypophysaire chez le chien castré (Davidson *et al.*, 1960). Chez le bélier castré, il ne se produit pas d'élévation de la LH dans l'hypophyse mais l'augmentation de la LH plasmatique dès 12 h après l'opération atteste que le fonctionnement du système hypothalamo-hypophysaire est bien le même que chez le rat castré (Pelletier, 1968).

L'ensemble de ces travaux indique qu'à la suite du retrait des stéroïdes testiculaires de la circulation, il se produit une synthèse et une décharge de LH accrues.

Inversement le traitement chronique par des injections quotidiennes de propionate de testostérone (100 μ g à 2 mg/j) pendant plusieurs semaines provoque une diminution importante de la teneur hypophysaire chez le rat mâle, normal ou castré (Hellbaum et Greep, 1943; Greep et Jones, 1950; Paesi et van Rees, 1960; Ramirez et McCann, 1965; Bogdanove et Gay, 1967). La dose limite de 100 μ g/j de propionate de testostérone entraîne une diminution de la LH chez les mâles normaux mais non chez les mâles castrés (Paesi *et al.*, 1959). La décroissance de la LH hypophysaire apparaît en relation avec la dose d'androgènes administrés (Ramirez et McCann, 1965) et après la cessation du traitement, plusieurs semaines peuvent être nécessaires pour que la teneur hypophysaire revienne au niveau de castration (Bogdanove et Gay, 1967).

Enfin par des expériences d'incorporation de 14 C-leucine il a été montré *in vivo* que les injec-

tions chroniques d'androgènes inhibaient la biosynthèse de LH (Wakabayashi et Tamoaki, 1967).

De plus les traitements androgéniques chroniques ont été trouvés par tous les auteurs provoquer une diminution du taux de la LH circulante (Gans, 1959; Ramirez et McCann, 1965; Bogdanove et Gay, 1967) chez le rat.

Nous avons examiné chez le bélier l'influence d'un traitement chronique par le propionate de testostérone.

Des béliers Ile-de-France, âgés de 15 mois, normaux ou castrés depuis 2 mois ont reçu 100 mg de propionate de testostérone tous les deux jours pendant 4 semaines. La LH a été dosée dans l'hypophyse par la technique de l'acide ascorbique ovarien (Parlow, 1958; Pelletier, 1963) et dans le plasma par radioimmunologie (Pelletier *et al.*, 1968).

TABLEAU I

*Effet du traitement chronique
par le propionate de testostérone sur la LH
hypophysaire et plasmatique
du bélier Ile-de-France*

Lots expérimentaux	n	LH hypophysaire ⁽⁺⁾ µg/mg	LH plasmatique ⁽⁺⁺⁾ ng/ml
♂	4	20,4 (12,5 - 33,3)	2,80 ± 0,42
♂ + p ^T	4	1,9 (1,31 - 2,8) ^(***)	1,85 ± 0,23
♂	4	21,5 (14,1 - 32,7)	10,3 ± 1,25
♂ + p ^T	4	4,2 (2,9 - 6,18) ^(***)	2,4 ± 0,45 ^(***)

⁺ µg équiv. LH-NIH-S₈ par mg de poudre hypophysaire sèche (moyenne et intervalle de confiance 95 %). LH-NIH-S₈ a été fournie par l'Institut national de la santé américain.

⁺⁺ µg équiv. LH-M₁/ml plasma (± Sm). LH-M₁ préparée selon Jutisz et Courte, 1968, a été fournie par le C. N. R. S.

^{***} Différence très hautement significative (P < 0,001).

Le tableau I montre que la teneur hypophysaire en LH a diminué de 80 % et 90 % respectivement par rapport aux animaux contrôles. De même le taux de LH dans le sang diminue de 75 % environ chez les animaux castrés traités aux androgènes. Chez les animaux entiers la teneur est également plus faible après traitement, toutefois la différence n'est pas significative, les valeurs se situant à la limite de sensibilité de la méthode.

Les résultats obtenus chez le rat et chez le bélier sont donc concordants et il est possible de conclure avec Ramirez et McCann (1965) que le traitement chronique par les androgènes exerce une double inhibition, de la synthèse et de l'excrétion de LH.

Cependant les traitements chroniques, souvent drastiques, ne permettent pas en fait de préciser la cinétique d'action des androgènes sur le fonctionnement hypophysaire. Le concept d'une rétroaction négative des stéroïdes sur l'hypophyse étant admis, nous pensons que des traitements androgéniques plus courts que ceux envisagés ci-dessus doivent permettre une meilleure approche des relations testostérone - sécrétion LH - excrétion LH. En effet en traitant des rats mâles castrés par 100 µg de propionate de testostérone par jour pendant une semaine, Boyd et Johnson (1968) ont observé une réduction du taux de la LH dans le sang mais aussi une augmentation dans l'hypophyse. Selon un protocole dérivé de celui proposé par Saito *et al.* (1967) pour le dosage du FRF, nous avons même pu constater qu'une seule injection de 10 mg de propionate de testostérone reproduisait les résultats de Boyd et Johnson (Pelletier, résultats non publiés). Des variations des taux de LH dans l'hypophyse et le plasma non parallèles doivent refléter des modifications différentes des phénomènes de sécrétion et de décharge après l'administration d'androgènes. Cette situation nous a semblé intéressante pour étudier le mode d'action de la testostérone sur le fonctionnement de l'hypophyse.

II. — Effet du traitement aigu par les androgènes sur la sécrétion et la décharge de LH

Nous avons effectué cette étude chez le bélier Ile-de-France : des animaux ont été castrés afin d'éviter les interférences avec les androgènes endogènes et une expérimentation préliminaire a été réalisée pour préciser au niveau plasmatique :

A) l'effet de la castration en fonction du temps post-opératoire;

B) l'effet d'une seule injection d'androgène en fonction de la dose administrée;

C) l'effet de l'intervalle de temps post-opératoire sur l'action d'une dose donnée d'androgène.

A) Effet de la castration sur le taux de LH plasmatique en fonction du temps post-opératoire.

Nous avons pu montrer précédemment (Pelle-tier, 1968) que la castration était suivie chez le bélier d'une élévation rapide de la LH dans le sang. Le taux passe de 1-4 ng/ml de plasma à 10-15 ng/ml une semaine après l'opération. L'élévation est ensuite lente et assez variable suivant les animaux. 1 an après la castration les taux sont compris entre 15 et 30 ng/ml. Après un délai d'une année les taux n'ont peut-être pas atteint leur maximum chez tous les individus mais leur accroissement est extrêmement lent.

B) Effet d'une injection de propionate de testostérone sur le taux de LH plasmatique : influence de la dose.

Le propionate de testostérone (stéraloids inc.) a été administré en solution huileuse par voie intramusculaire à des béliers âgés de 18 mois environ et castrés depuis 2 à 4 mois.

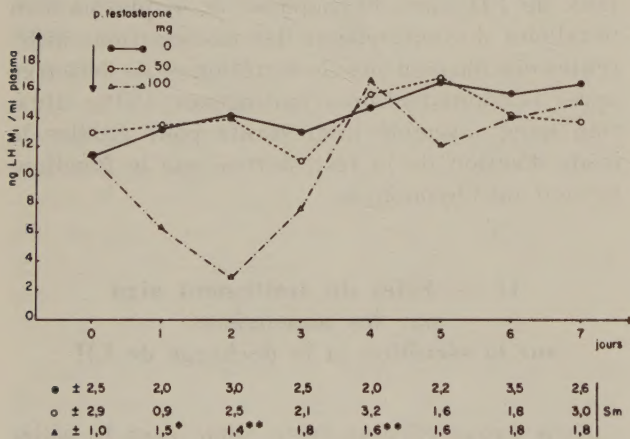


FIG. 1. — Variations du taux de la LH plasmatique du bélier castré après administration de 0, 50 ou 100 mg de propionate de testostérone en injection intramusculaire.

Le graphique I montre qu'une injection unique de 50 mg de propionate de testostérone n'engendre aucune variation de la LH plasmatique; en revanche une dose double provoque une diminution significative 24 h après l'injection et hautement significative 48 h après l'injection.

Le taux de LH remonte ensuite à une valeur supérieure à celle de départ (4^e jour). Cet effet de rebond apparaît bref et n'est pas décelable chez tous les animaux.

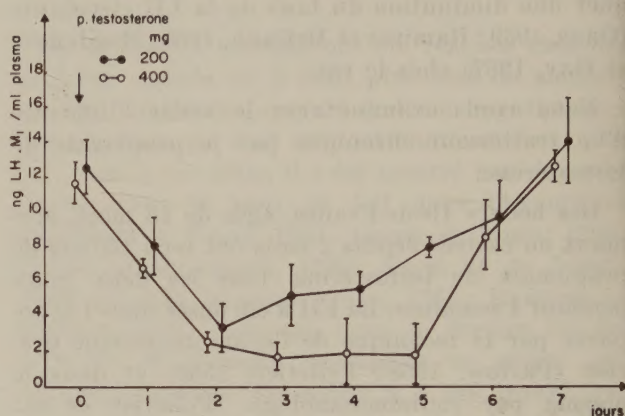


FIG. 2. — Variations du taux de la LH plasmatique du bélier castré après administration de 200 à 400 mg de propionate de testostérone en injection intramusculaire (moyenne ± Sm).

Le graphique 2 montre les effets très accusés provoqués par l'injection des doses de 200 ou 400 mg de propionate de testostérone sur les taux de la LH plasmatique : après l'injection de la dose de 200 mg de LH passe par une valeur minimum 48 h après l'injection puis remonte lentement entre le 2^e et le 7^e jour. Lorsque la dose administrée est de 400 mg le taux reste très faible (2 ng/ml du 2^e au 5^e jour puis revient le 7^e jour à sa valeur initiale. L'effet de rebond n'a pu être détecté ici dans la durée des prélèvements considérés.

L'évolution de la LH dans le sang après injection d'androgène apparaît donc bien fonction de la dose.

On peut noter également que la diminution de la LH plasmatique chez les béliers recevant 400 mg de testostérone a été trouvée semblable à celle enregistrée chez des animaux recevant la même dose de propionate de testostérone.

C) Effet de l'intervalle de temps post-opératoire sur la réponse de LH plasmatique à une injection de propionate de testostérone.

L'augmentation du taux de la LH circulante en fonction du temps après la castration suggérait

une influence de l'intervalle de temps post-opératoire sur la variation de LH après injection d'androgènes. Pour tester l'importance de ce paramètre une injection intramusculaire de 400 mg de propionate de testostérone a été effectuée chez des béliers Ile-de-France castrés depuis une semaine ou 7 mois respectivement.

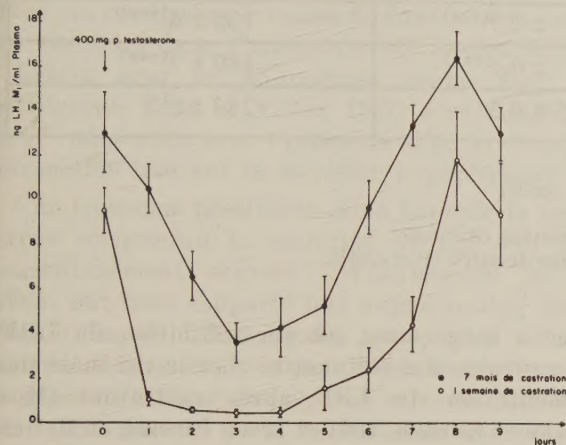


FIG. 3. — Variations du taux de la LH plasmatique chez des béliers castrés depuis une semaine ou 7 mois après administration de 400 mg de propionate de testostérone en injection intramusculaire (moyenne $\pm$ Sm).

Le graphique 3 montre les évolutions très différentes des taux de la LH circulante dans ces 2 séries expérimentales : chez les animaux castrés depuis une semaine la diminution du taux de la LH plasmatique est de 90 % dès le premier jour et de 20 % seulement chez ceux castrés depuis 7 mois. 3 jours après l'injection les taux représentent respectivement 5,3 % et 36 % des valeurs initiales. Cependant dans les deux lots expérimentaux l'effet de rebond est décelable le 8^e jour, mais la variance est alors particulièrement forte chez les béliers castrés depuis une semaine, car certains animaux ont encore un taux de LH au niveau minimum.

Un essai effectué chez des animaux castrés depuis 14 mois a montré que l'injection d'une dose de 400 mg de propionate de testostérone était nettement insuffisante pour provoquer une diminution de la LH plasmatique comparable à celle observée chez les animaux castrés depuis 7 mois et une dose de 600 mg de propionate de testostérone est apparue nécessaire.

L'augmentation lente du taux de LH, qui se poursuit longtemps après la castration, doit refléter un état d'hyperfonctionnement du système hypothalamohypophysaire progressivement croissant ; ceci pourrait expliquer que des doses de plus en plus élevées d'androgènes soient nécessaires pour inhiber la décharge de LH au fur et à mesure que le temps après la castration s'accroît.

III. — Mode d'action du propionate de testostérone dans la régulation de la décharge de LH

Les variations importantes du taux de LH plasmatique après une injection de propionate de testostérone chez des animaux castrés depuis une semaine fournissent une situation propice aux études du mode d'action des androgènes sur la décharge. C'est pourquoi des béliers Ile-de-France adultes, castrés depuis une semaine ont été abattus sans avoir subi de traitement ou 2 jours, 7 jours et 9 jours après une injection de 400 mg de propionate de testostérone. Outre la LH hypophysaire et plasmatique, le LRF hypothalamique a été mesuré puisqu'il a été trouvé que ce facteur commande au moins la décharge, chez toutes les espèces où il a été étudié (McDonald *et al.*, 1969). Les dosages du LRF ont été effectués selon la technique d'incubation d'hypophyses *in vitro* en présence d'extraits hypothalamiques bruts suivant des conditions déjà décrites (Pelletier et Ortovant, 1968). Les résultats sont rassemblés dans le tableau II. Les résultats des dosages de LH plasmatique sont conformes aux résultats déjà présentés, le taux étant significativement diminué 2 jours après l'injection de l'androgène. En revanche on observe une augmentation de la teneur hypophysaire 2 et 7 jours après l'administration du propionate de testostérone : ces faits indiquent que la sécrétion hypophysaire se poursuit en dépit d'une décroissance de l'intensité de la décharge. Enfin les mesures de l'activité hypothalamique révèlent une diminution significative du LRF 2 jours et 7 jours après l'injection. En l'absence de décharge de LH, cette diminution de l'activité LRF de l'hypothalamus peut être attribuée à un défaut de synthèse de ce peptide.

TABLEAU II

Effet d'une injection de 400 mg de propionate de testostérone sur la LH hypophysaire et plasmatique et sur l'activité LRF du bélier Ile-de-France castré.

Temps après l'injection jours	n	LH plasmatique ⁽⁺⁾ ng/ml plasma	LH hypophysaire ⁽⁺⁺⁾ µg/mg	Activité LRF ⁽⁺⁺⁺⁾ ngLH libérée/mg hypophyse
0	3	13,7 ± 1,2	4,0 ± 0,2	245 ± 7
2	3	4,1 ± 1,5 ^(**)	7,2 ± 0,7 ^(***)	135 ± 6 ^(***)
7	3	8,0 ± 4,1	9,3 ± 0,1 ^(***)	180 ± 7 ^(***)
9	3	14,5 ± 0,5	4,25 ± 0,3	233 ± 5 ^(*)

⁺ ng équiv. LH-M₁/ml plasma.

⁺⁺ µg équiv. LH-NIH-S₈ par mg de poudre antéhypophysaire sèche.

⁺⁺⁺ ng équiv. LH-M₁ libérée par mg d'hypophyse incubée.

^{**} Différence avec le groupe contrôle (JO) hautement significative (P < 0,01).

^{***} Différence avec le groupe contrôle (JO) très hautement significative (P < 0,001).

Dans ces conditions d'expérimentation aiguë, il semble donc bien que les androgènes circulants provoquent essentiellement une diminution de la décharge de LH dans le sang par une inhibition de la synthèse du LRF dans l'hypothalamus (Pelletier, sous presse).

Conclusions

Il apparaît que la testostérone possède un effet inhibiteur net sur la décharge de LH, que le traitement androgénique soit long ou non. Dans le cas d'une injection unique nous avons vu que cet effet se manifeste chez le bélier par une action au niveau du LRF hypothalamique. Bien qu'en l'absence de dosages plasmatiques la certitude soit moins grande, les travaux de Piacsek et Meites (1966) semblent indiquer que le mécanisme est le même chez le rat.

David *et al.* (1966) et Corbin et Cohen (1966) ont envisagé l'existence d'un système court de rétroaction négative entre le LH et le LRF; ce mécanisme se trouverait confirmé par l'augmentation du LRF détecté dans le sang de l'animal hypophysectomisé (Nallar et McCann, 1965). On voit cependant mal actuellement quelle peut être l'incidence d'un tel type de régulation dans les conditions physiologiques, si l'on considère que les quantités très importantes de LH libérées par l'hypophyse de l'animal castré n'engendrent,

même à long terme, aucune inhibition du LRF. Au contraire il a été montré chez le rat mâle une augmentation du LRF après castration (Moskowska et Kordon, 1961 et 1965; Piacsek et Meites, 1966).

D'autre part on ne connaît présentement aucun stéroïde pouvant provoquer chez le mâle un rôle de stimulation de la décharge, comparable à celui joué par les œstrogènes chez la femelle (effet Hohlweg). On doit donc envisager actuellement que ce sont les fluctuations du taux des androgènes circulants qui assurent la régulation de la décharge de LH.

Les rapports entre les androgènes et la sécrétion hypophysaire en LH restent encore très obscurs. Dans l'expérience aiguë rapportée ci-dessus on observe une augmentation de la teneur de l'hypophyse à la suite de l'injection de propionate de testostérone: cela peut signifier soit que la sécrétion n'est pas directement influencée par les androgènes soit que l'arrêt brutal de l'excrétion masque un effet inhibiteur lent sur la synthèse.

En faveur de la première hypothèse divers auteurs ont montré que des implants de testostérone dans l'hypophyse, à la différence de ceux placés dans l'hypothalamus basal, ne modifiaient pas la teneur hypophysaire en LH (Davidson et Sawyer, 1961; Lisk, 1962; Chowers et McCann, 1965). De même les implants de cyprotérone — un antiandrogène — provoquent une augmentation de la sécrétion des gonadotropines s'ils sont situés

dans l'hypothalamus mais non dans l'hypophyse (Bloch et Davidson, 1967 ; Davidson et Bloch, 1969).

En revanche la testostérone tritiée injectée chez le cobaye (Resko *et al.*, 1967) ou chez le rat (Sampere *et al.*, 1969) se fixant autant sinon plus au niveau de l'hypophyse qu'au niveau de l'hypothalamus, incite à pencher pour la seconde hypothèse. Dans ces conditions le temps de fixation très court des stéroïdes dans l'hypophyse (de l'ordre de 1 à 2 heures pour les androgènes comme pour les œstrogènes, Kato et Vilee, 1967) serait difficilement compatible avec l'existence d'un système de rétroaction lent sur la sécrétion hypophysaire.

Une troisième possibilité selon laquelle la testostérone stimulerait la sécrétion de LH doit être momentanément écartée : Wakabayashi *et al.* (1968) ont bien rapporté une augmentation de la biosynthèse de LH dans des hypophyses de rats castrés, traités 3 jours par les androgènes mais il apparaît délicat de séparer cette action d'un effet plus général de la testostérone sur la synthèse des protéines.

Les expériences d'injections chroniques d'androgènes ne permettent pas d'éviter l'alternative précédemment signalée : en effet la diminution de la teneur en LH enregistrée alors, peut provenir d'une action directe des androgènes sur la sécrétion de LH ou bien d'une inhibition de longue durée du LRF qui outre sa fonction sur la décharge de LH pourrait aussi avoir une action, au moins indirecte, sur la synthèse de cette hormone.

En résumé, la testostérone apparaît inhibitrice de la décharge de LH et nous avons pu mettre en évidence qu'elle agissait sur la synthèse du LRF. Une étape ultérieure de recherche devra examiner si la sensibilité de l'hypothalamus aux androgènes varie au cours de l'année, en particulier chez les animaux où l'action du photopériodisme est importante.

Nous avons vu d'autre part que la participation de la testostérone dans la régulation de la sécrétion de LH est sujette à controverses et nous pensons que c'est surtout sur ce point que devraient se concentrer les recherches futures : la testostérone influence-t-elle directement ou non la biosynthèse de LH ? Les perspectives de recherches dans ce domaine de la neuroendocrinologie restent particulièrement vastes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ATTAL J. (1969). — Levels of testosterone, androstenedione, estrone and estradiol-17 β in the testes of fetal sheep. *Endocrinology*, **85**, 280-289.
- BERSON S.A., YALOW R.S., BAUMAN A., ROTHCHILD M.A. et NEWERLY K. (1956). — Insulin-I 131 metabolism in human subjects : demonstration of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects. *J. Clin. Invest.*, **35**, 170-190.
- BLOCH G.J., et DAVIDSON J.M. (1967). — Anti-androgen implanted in brain stimulates male reproductive system. *Science*, **155**, 593-595.
- BOGDANOVE E.M. et GAY V.L. (1967). — Changes in pituitary and plasma levels of LH and FSH after cessation of chronic androgen treatment. *Endocrinology*, **81**, 930-933.
- BOYD R. et JOHNSON D.C. (1968). — Gonadotrophin patterns in male and female rats : inhibition of LH release by testosterone propionate in animals gonadectomized at puberty. *Acta Endocrin.*, **58**, 600-612.
- CHOWERS I. et McCANN S.M. (1965). — Content of luteinizing hormone-releasing factor and luteinizing hormone during the estrous cycle and after changes in gonadal steroid titers. *Endocrinology*, **76**, 700-708.
- CORBIN A. et COHEN A.I. (1966). — Effect of median eminence implants of LH on pituitary LH of female rats. *Endocrinology*, **78**, 41-46.
- DAVIDSON J.M. et BLOCH G.J. (1969). — Neuroendocrine aspects of male reproduction. *Biology of reproduction*, **1**, 67-92.
- DAVIDSON J.M. et SAWYER C.H. (1961). — Evidence for an hypothalamic focus of inhibition of gonadotropin by androgen in the male. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **107**, 4-7.
- DAVIDSON J.M., CONTOPOULOS A.N. et GANONG W.F. (1960). — Decreased gonadotrophic hormone content of the anterior pituitary gland in dogs with hypothalamic lesions. *Endocrinology*, **66**, 735-740.
- ENGLE E.J. (1929). — The effect of daily transplants of the anterior lobe from gonadectomized rats on immature test animals. *Am. J. Physiol.*, **88**, 101-106.

- EVANS H.S. et SIMPSON M.E. (1929). — A comparison of anterior hypophyseal implants from normal and gonadectomized animals with reference to their capacity to stimulate the immature ovary. *Am. J. Physiol.*, **89**, 371-378.
- FRANCHIMONT P. (1966). — Dosage radioimmunologique des hormones lutéinisantes chorionique et hypophysaire. *Ann. Endocr.*, **27**, 273-280.
- GANS E. (1959). — Over het gehalte aan follifel-stimulerend en luteiniserend hormoon in serum. *Thèse Leyde*.
- GREEP R.O. et JONES I.C. (1950). — Steroid control of pituitary function. *Rec. Progr. in Horm. Res.*, **5**, 197-261.
- GREEP R.O., VAN DYKE H.B. et CHOW B.F. (1941). — Use of anterior lobe of prostate gland in assay of Metakentrin. *Proc. Soc. exp. Biol. N.Y.*, **46**, 644-649.
- HELLBAUM A.A. et GREEP R.O. (1943). — Qualitative changes induced in gonadotropic complex of pituitary by testosterone propionate. *Endocrinology*, **32**, 33-40.
- KATO J. et VILLEE C.A. (1967). — Preferential uptake of estradiol by the anterior hypothalamus of the rat. *Endocrinology*, **80**, 567-575.
- MCDONALD S. et McCANN S.M. (1969). — Hypothalamic pituitary stimulating and inhibiting hormones. *Physiol. Rev.*, **49**, 240-284.
- MIDGLEY A.R. (1966). — Radioimmunoassay : a method for human chorionic gonadotropin and human luteinizing hormone. *Endocrinology*, **79**, 10-18.
- MONROE S.E., PARLOW A.F. et MIDGLEY A.R. (1968). — Radioimmunoassay for rat luteinizing hormone. *Endocrinology*, **83**, 1004-1012.
- MOSZKOWSKA A. et KORDON C. (1961). — Action d'implants hypothalamiques de rats mâles et femelles castrés sur la fonction gonadotrope de l'hypophyse greffée. *C.R. Soc. Biol.*, **160**, 39-42.
- MOSZKOWSKA A. et KORDON C. (1965). — Contrôle hypothalamique de la fonction gonadotrope et variation des GRF chez le rat. *Gen. Comp. Endocr.*, **5**, 596-613.
- NALLAR R. et McCANN S.M. (1965). — Luteinizing hormone-releasing activity in plasma of hypophysectomized rats. *Endocrinology*, **76**, 272-275.
- NISWENDER G.D., REICHERT L.E., MIDGLEY A.R. et NALBANDOV A.V. (1969). — Radioimmunoassay for bovine and ovine luteinizing hormone. *Endocrinology*, **84**, 1166-1173.
- PAESI F.J.A. et DE JONGH S.E. (1958). — The effect of castration and (or) oestrogen treatment on the interstitial cell stimulating hormone content of the hypophysis of male rats. *Acta Physiol. Pharmacol. Neerlandica*, **7**, 277-288.
- PAESI F.J.A., DE JONGH S.E. et CROES-BUTH S. (1959). — The effect of a low dosage of testosterone on the ICSH and FSH contents of intact and gonadectomized male and female rats. *Acta Endocr.*, **30**, 259-267.
- PAESI F.J.A. et VAN REES G.P. (1960). — The effect of gonadectomy on the response of the pituitary ICSH — content to steroid sex hormones. *Acta Endocr.*, **35**, 235-244.
- PARLOW A.F. (1958). — A rapid bioassay method for LH and factors stimulating LH secretion. *Feder. Proc.*, **17**, 402.
- PELLETIER J. (1963). — Etude critique du dosage de ICSH par la méthode de l'acide ascorbique ovarien. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, **3**, 307-323.
- PELLETIER J. (1968). — Elévation du taux de LH dans le plasma sanguin du bélier après castration. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, **8**, 313-315.
- PELLETIER J. — Mode of action of testosterone propionate on the secretion and release of luteinizing hormone (LH) in the castrated ram. *Acta Endocr.* Sous presse.
- PELLETIER J., KANN G., DOLAIS J. et ROSSELIN G. (1968). — Dosage radioimmunologique de l'hormone lutéinisante plasmatique chez le mouton. Mise au point de la technique de dosage. *C.R. Acad. Sc.*, **266**, 2291-2294.
- PELLETIER J. et ORTAVANT R. (1968). — Influence de la durée quotidienne d'éclairement sur l'activité hypothalamique LRF du bélier. *C.R. Acad. Sc.*, **266**, 1604-1606.
- PURVES H.D. et GRIESBACH W.E. (1955). — Changes in the gonadotrophs of the rat pituitary after gonadectomy. *Endocrinology*, **56**, 374-386.
- PIACSEK B.E. et MEITES J. (1966). — Effects of castration and gonadal hormones on hypo-

thalamic content of luteinizing hormone releasing factor (LRF). *Endocrinology*, **79**, 432-439.

RAMIREZ V.D. et McCANN S.M. (1963). — Comparison of the regulation of luteinizing hormone (LH) secretion in immature and adult rats. *Endocrinology*, **76**, 412-417.

RESKO J.A., GOY R.W. et PHOENIX C.H. (1967). — Uptake and distribution of exogenous testosterone-1,2-³H in neural and genital tissues of the castrate guinea pig. *Endocrinology*, **80**, 490-498.

SAITO T., ARIMURA A., MULLER E.E., BOWERS C.Y. et WHITE W.F. (1967). — Purification of stimulating hormone-releasing factor (FSH-RF) from bovine hypothalamus. *Endocrinology*, **80**, 313-318.

SAMPEREZ S., THIEULANT M.L., POUPON R., DUVAL J. et JOUAN P. (1969). — Etude de la pénétration de la testostérone-1,2-³H dans l'hypophyse antérieure, l'hypothalamus et le cortex cérébral du rat castré et normal. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **51**, 117-131.

WAKABAYASHI K. et TAMAOKI B.I. (1967). — *In vivo* and *in vitro* effects of androgens on the biosynthesis of luteinizing hormone (LH) in the anterior pituitary glands of male rats. *Endocrinology*, **80**, 409-416.

WAKABAYASHI K., OGISO T. et TAMAOKI B.I. (1968). — Acute effects of androgen and estrogen on the promotion of aminoacid incorporation into luteinizing hormone and protein in the anterior pituitary glands of male rats. *Endocrinology*, **82**, 731-740.

DISCUSSION

Prof. Baulieu. — Vous utilisez des doses relativement fortes de testostérone dans vos expériences. Ne croyez-vous pas à la possibilité d'un effet secondaire, dû par exemple à la transformation de la testostérone injectée en un métabolite ?

Dr. Pelletier. — Nous avons pu montrer que la dose quotidienne de 50 mg de propionate de testostérone à des béliers castrés assuraient le maintien des glandes annexes à un poids supérieur à celui des animaux intacts en jours longs (16 heures de lumière

par jour) mais inférieur à celui des animaux en jours courts, période normale d'activité sexuelle (8 heures de lumière par jour). De plus, après un mois de ce traitement androgénique la teneur en LH dans l'hypophyse est inchangée chez les animaux castrés en jours courts alors qu'elle est abaissée de 60 % chez les animaux castrés en jours longs.

La dose de 50 mg ne semble donc pas extra-physiologique. Les doses de plus en plus importantes nécessaires pour abaisser le taux de LH plasmatique au fur et à mesure qu'augmente le temps après la castration, peuvent être rapprochées de l'élévation progressive de ce taux en fonction du temps post-opératoire.

En revanche, il ne m'est pas possible, en l'absence de dosages plasmatiques d'androgènes, de savoir si le propionate de testostérone injecté en intramusculaire agit sous cette forme ou après transformation en un autre métabolite.

M^{me} Tixier. — Dans un récent travail Wakabayashi et al., travaillant sur le Rat castré traité pendant de courtes durées à la testostérone, mesurent la néosynthèse *in vitro* de la LH par incorporation de L-leucine marquée. Il constate après 3 jours de traitement une augmentation de la néo-synthèse, puis après 6 jours une diminution. Que pensez-vous de ces résultats à la lumière de vos recherches ?

Dr. Pelletier. — Nous n'avons pas étudié l'aspect de la synthèse de LH après injection du propionate de testostérone mais principalement le taux de LH dans le sang. Dès 6 h après une injection de 100 mg, le taux de LH plasmatique décroît, pour atteindre sa valeur minimale après 1 à 2 jours; l'augmentation de la teneur hypophysaire alors constatée doit être, au moins en partie, en relation avec la diminution brutale de la décharge.

Quant aux expériences de Wakabayashi et collaborateurs, auxquelles vous faites allusion, elles montrent surtout que la testostérone a une action générale sur la synthèse des protéines, et il apparaît bien délicat de séparer la synthèse de LH de celle-ci.

Prof. Barry. — J'ai été frappé du parallélisme entre certaines de vos observations et des observations faites au niveau hypothalamique dans des circonstances analogues : activation de certaines cellules (NHLDi) après castration (débutant 12 heures après celle-ci); blocage de cette réaction par la testostérone; stimulation par les œstrogènes; différences de charges très sensibles dans les premiers jours; épuisement progressif des « stocks » visibles à partir du 10^e jour s'accusant au cours des mois suivants.

Prof. Stutinsky. — Plusieurs auteurs signalent une libération de LH chez le Rat mâle comme chez la femelle sous l'effet du coït. Avez-vous observé des effets similaires chez le Bélier ?

Dr. Pelletier. — Nous n'avons pas étudié cet aspect chez le bélier et je ne puis vous répondre sur ce point.

